植物保護學會會刊　38: 247～259, 1996

營養對香蕉炭疽病菌附著器形成及潛伏感染之影響

楊宏仁[1]　莊再揚[2]

1. 臺中縣霧峰鄉臺灣省農業試驗所植病系
2. 台北市國立臺灣大學植病系

(接受日期：民國85年9月19日)

摘　要

楊宏仁、莊再揚　1996　營養對香蕉炭疽病菌附著器形成及潛伏感染之影響　植保會刊　38: 247-259.

香蕉炭疽病菌 (*Colletotrichum musae*) 在青香蕉或是熟香蕉果皮上之分生胞子發芽率與附著器形成率並無差異；接種傷口會促進分生胞子發芽但抑制附著器之形成。在添加10,000 ppm單寧的PDA平板上，分生胞子發芽後不長發芽管而直接形成附著器，此附著器在乾燥下可存活六十天並保有活力。香蕉表面分泌物濃度在催熟後第五天開始增加，至第八天時醣類濃度爲未催熟青香蕉之六倍，至第十天時暴增爲八十五倍，而蛋白質濃度則增爲十二倍，分生胞子在此濃度相當之葡萄糖及asparagine中幾乎完全發芽並生長良好，不形成附著器，而催熟九天後之滲漏養分則只能使分生胞子發芽並形成附著器。以蒸餾水沖洗黃熟香蕉上接種部位，會延遲病斑之出現。

(關鍵詞：香蕉炭疽病、附著器、營養)

緒　言

炭疽病是香蕉果實上一種常見而具有潛伏感染特性的病害，Simmonds(22)根據香蕉炭疽病菌先在綠色未成熟果實上潛伏，而於黃熟果實產生病斑之現象，認爲青香蕉與熟香蕉之間必定存有某些生理變化，使病原菌在青香蕉上暫時潛伏，因而歸納提出四個假說；之後Verhoff(24)再加以整合爲三個假說，即㈠毒素說：最早被注意到的是青香蕉果皮內所含單寧(tannin)量是成熟香蕉的十倍(7)。黃氏(2)之研究也發現臺灣冬蕉果皮在收穫後第一天的單寧含量高達24,830 ppm，之後隨催熟後天數增加而降低。單寧在培養基中含量較高時，會抑制香蕉炭疽病菌分生胞子發芽

及菌絲生長，但若其濃度低到0.25％時，反而促進發芽及發芽管之生長；因此學者認爲單寧含量變化頗符合潛伏感染之特性(24)。另外有人則做香蕉因炭疽病菌侵擾而產生抗菌物質的研究，他們分別提出不同的論點，例如以Anthranilic acid(AA)、2,3-dihydroxybenzoic acid (DHBA)、鐵離子等等在青香蕉及熟香蕉中質與量之差異(10, 11, 16, 23)，解釋香蕉表面胞子發芽率及附著器形成率的問題，他們以爲胞子發芽及附著器形成與否，乃是潛伏與否之癥結所在。㈡營養說：根據Barnell(6,7,8,9)之研究，發現青香蕉尚在發育期間，無論果皮或果肉所含主要的碳水化合物是澱粉，而没有蔗糖、果糖、葡萄糖等游離醣存在，催熟後果皮及果肉內之澱粉才迅速轉變爲蔗糖、果糖與葡萄糖等之游離糖；Kervegent認爲病原菌因產生的澱粉分解酵素不夠，無法有效利用香蕉未成熟時之主要碳水化合物，因此必須先以附著器暫行潛伏(22)，但Simmonds(22)以澱粉爲唯一碳素源來培養香蕉炭疽病菌，發現其生長較在其他醣類中爲佳，因此他認爲不能以無法利用澱粉來解釋潛伏感染機制。㈢酵素說：認爲青香蕉果皮的中果膠層所含之果膠質極爲堅固，而炭疽病菌無法分泌足夠之分解酵素去分解果皮的中果膠層。當果實成熟後則因本身之自我水解，使果膠變軟，並有游離的果膠質(22,24)刺激病原菌產生較多的果膠分解酵素，而突破較柔軟之果皮，打破潛伏(22)。但是經Simmonds(22)之實驗，卻未能證實果膠分解酵素對炭疽病菌侵入青香蕉有幫助，反而可能是因分解酵素本身所含養分刺激病原之效果。本文擬探討營養與香蕉炭疽病潛伏機制之關係，解釋香蕉表面胞子發芽率及附著器形成率的行爲。

材料與方法

菌種及香蕉材料

Colletotrichum musae (Berk. & Curt.) von Arx爲分離自本省中南部香蕉果園生產之果實，再以單胞分離培養，本實驗採用病原性較強之C群中的菌株CM-71(4)，先接種在PDA平板或PDA斜面培養基，放於25℃照光的恆溫箱培養七至十天後，以無菌水洗出分生胞子並調成10^6 conidia/ml濃度備用。接種之青香蕉材料取自臺灣香蕉研究所或臺灣省青果運銷合作社台北分社及私人香蕉催熟工廠之北蕉，熟香蕉則購自市場。

分生胞子在香蕉果皮上發芽及附著器之形成

青香蕉及市場購回帶有生理斑點(約1㎜直徑以內)之熟香蕉，以自來水沖洗乾淨，再以蒸餾水潤濕後陰乾。爲使香蕉表面物質之質與量較能回復自然狀態，先置於濕室之內24小時。以Microsyringe作接種，在每個接種點之上滴3μl之10^6 conidia/ml濃度的分生胞子懸浮液，再置於濕室中，並放在25℃恆溫箱中48小時；之後計數每個接種點上之所有胞子發芽率及形成附著器的百分率。本試驗共有五個不同處理，分別是青香蕉無傷口接種、青香蕉無傷口接種但先在接種位置鋪上一片cellophane、青香蕉作傷口接種(以人造菜瓜布擦傷接種位置)、青香蕉作傷口接種並在傷口接種位置上鋪上一片cellophane、以及熟香蕉無傷口接種。每處理共計數三個接種位置，試驗重複二次。

附著器抵抗惡劣環境之能力

在添加10,000 ppm Tannin的PDA平板上，鋪放數塊cellophane，再滴上*C. musae*的分生胞子懸浮液，放入25℃照光之恆溫箱中，促使附著器形成，並使其自然失去水份及養分，經30及60天後各取出數小塊cellophane放在新配好的PDA平

板上，觀察記錄其生長情形。

香蕉分泌物之萃取

自水果商購入未催熟之青香蕉，經自來水沖洗乾淨，陰乾後取一半之香蕉置於塑膠桶中，於20℃冷房，以電石催熟24小時後鬆綁，使桶內之乙烯逸出，並每天噴水保持潮濕。另一半青香蕉則留在另一桶內，保持潮濕，不催熟處理。每24小時自催熟處理及未催熟處理的香蕉各取出四支果指作分泌物之萃取。為沖洗掉已分泌在果皮上的物質，將二種處理之香蕉各放於1公升之塑膠燒杯之內，沖自來水5分鐘，之後以一次蒸餾水1,000 ml泡5分鐘。再用二次蒸餾去離子水沖洗三次後，置於塑膠燒杯內，上以保鮮膜密封，靜置一天後，再以二次去離子水1,000 ml泡二小時，取出香蕉，得到之二次去離子水中所含物質即為該處理香蕉24小時內所分泌。另以小燒杯裝50 ml二次去離子水亦置放二小時，作為去離子水干擾對照。本試驗重複二次。

分泌物溶液內含物之測定

電導度及酸鹼值之測定：以Basic公司之電導度計(conductivity meter : model DCM-3/digital conductivity meter)及酸鹼度計(pH meter : model-321 digital pH-mV meter)分別測定二種不同處理的香蕉萃取溶液以及二次去離子水干擾對照組之電導度及酸鹼值之變化。

萃取液內含物之測定及濃度之計算：萃取液以49℃減壓濃縮萃取，將體積自1,000 ml 濃縮至5～20 ml，取出稱重後，作蛋白質含量及總含醣量及dopamine之測定計算。蛋白質含量以Lowery method測定[5]。總含醣量之測定，則使用Anthrone test [1,5]並稍為修正。先配製Anthrone reagent：2 g之Anthrone (Serva Chemicals)加入100 ml濃硫酸(95～97.5 % Merck)之中配成2％之保存液，此保存液置於有色瓶中，置於4℃下，，使用時再稀釋成0.2％，取已洗淨試管，加入新配之Anthrone reagent 5 ml，再加入欲測醣試液1 ml，立即搖勻後，置入沸水浴加熱10分鐘，取出試管，急速冷卻，並以625 nm波長，測呈色OD值。標準值以葡萄糖溶液代替總醣量。dopamine含量的測定，乃以1 ml試液加入1 ml酒石酸亞鐵溶液(0.1 g $FeSO_4 \cdot 7H_20$加0.5 g酒石酸鉀鈉/100 ml水)及3 ml M/15磷酸鹽緩衝液(pH7.5)反應後，測OD_{540nm}。先以dopamine 作標準曲線。由蛋白質濃度、含醣濃度及dopamine之測定值，可推算在各處理內之1,000 ml萃取液中總蛋白質及總醣量及dopamine，再除以各處理之香蕉果皮表面積，可得到某特定24小時內每單位表面積上之分泌物濃度。為了計算每單位面積上的香蕉果皮上之平均分泌物質含量，需測量香蕉果皮的表面積，其方法乃是稱量不同面積的方格紙之重量，計算而得一重量與面積的關係式。各處理之香蕉催熟後剝皮在方格紙上拓印出果皮之形狀，剪下方格紙上果皮之形狀，經烘乾、稱重、再由所得之面積與重量關係式，求得香蕉的表面積。

添加養分對胞子發芽及附著器形成之影響

配製含有0、2,000、10,000、20,000 ppm dopamine(3,4-dihydroxyphenethylamine)(Sigma) 之 0.8 % Agarose (Serva)平板，上舖7 mm直徑已殺過菌的0.2 μm孔徑之Millipore過濾膜。菌株CM-71分生胞子經過濾去除營養，再配製成10^7 conidia/ml之懸浮液。加一滴15 μl胞子懸浮液於Milipore上。置於25℃恆溫箱中一天後，再於過濾膜上添加7.6 μl各種不同濃度之營養添加液後，繼續在恆溫箱內培養48小時，取出計數胞子發芽率

及附著器形成率。所添加之營養，以前述計算所得單位表面積果皮滲漏出營養物質爲準，分別以葡萄糖代替醣類含量，而以asparagine代替蛋白質之含量。各營養液之配製，以供給7.6 μl即可提供一濾紙圓塊上之單位面積之醣含量及蛋白質含量得與香蕉表皮上濃度相同之物質。各營養液分別如下：A: glucose 0 ppm 加 aspargine 0 ppm：單位表面積濃度爲glucose 0 μg/cm²，asparagine 0 μg/cm²，當對照組用。B: glucose 100 ppm加asparagine 100 ppm：單位表面積濃度爲glucose 2μg/cm²，加aspargine 2 μg/cm²，是爲青香蕉接種後二天之累積滲漏濃度。C: glucose 250 ppm加asparagine 500 ppm：單位表面積濃度爲glucose 5 μg/cm²，加aspargine 10 μg/cm²，是爲青香蕉接種後十天之累積滲漏濃度。D: glucose 500 ppm加asparagine 1,000 ppm：單位表面積濃度爲glucose 10 μg/cm²，加aspargine 20 μg/cm²，是爲熟香蕉催熟後九天之累積滲漏濃度。E: glucose 2,000 ppm加asparagine 1,500 ppm：單位表面積濃度爲glucose 40 μg/cm²，加aspargine 30 μg/cm²，是爲熟香蕉催熟後十天之滲漏突然增加之累積濃度。F: glucose 5,000 ppm 加 asparagine 2,500 ppm：單位表面積濃度爲glucose 100 μg/cm²，加aspargine 50μg/cm²，是另一次實驗時熟香蕉催熟後十天之累積滲漏濃度。

香蕉果皮接種部位滴水處理與感染之關係

青香蕉先清洗後，於每根香蕉上選平整部位作接種，以20 μl之10^6 conidia/ml濃度的CM-71菌株分生胞子懸浮液輕滴於接種位置上。置於濕室24小時後取出，以電石催熟一天，再取出以點滴方法用蒸餾水沖洗接種部位。滴水速度約每分鐘10-15滴，並盡量靠近香蕉接種位置。每天觀察記錄。每根香蕉作二個接種，一個滴水，另一是對照組不滴水，但以濕濾紙塊覆蓋保持潮濕。接種方法分成傷口接種及無傷口接種，各有三條香蕉。另各有一根香蕉分別作不加病原菌之傷口及無傷口接種，以爲對照。

結　　果

分生胞子在香蕉果皮上發芽及附著器形成

分生胞子在果皮上發芽及附著器形成情形，由表一可見青香蕉及熟香蕉果皮上的胞子發芽率並無差異。但是若舖上cellophane則在青香蕉未作傷口接種之處理，胞子發芽率會下降，而作傷口接種，雖亦舖有cellophane，其發芽率卻可達100%，而且在48小時檢查時，完全沒有附著器形成。由表中可見到青香蕉傷口接種的處理，胞子發芽極佳，卻不形成附著器，傷口似乎會促進胞子發芽以及菌體生長。而青香蕉無傷口上舖有cellophane者發芽率及附著器形成率都顯著下降。炭疽病菌在熟香蕉及青香蕉果皮上生成附著器的能力並無差異。

附著器抵抗惡劣環境之能力

在含10,000 ppm單寧的培養基上，分生胞子發芽後會立刻形成附著器(圖一)，而不會長出發芽管及菌絲，生長立即停滯。生長在培養皿中的菌體，放在恆溫箱中，隨時間之增加，至60天時所見的培養基已乾成薄片拱起可脫離培養皿，但是在此種惡劣環境，經60天後，將菌體取出放在新配的PDA平板上，仍能立即自附著器長出菌絲生長，覆滿培養皿，顯示附著器可以抵抗單寧及乾燥環境的壓力而存活。但是在單寧濃度1000 ppm之WA上時，發芽及生長受抑制不大，會產生很

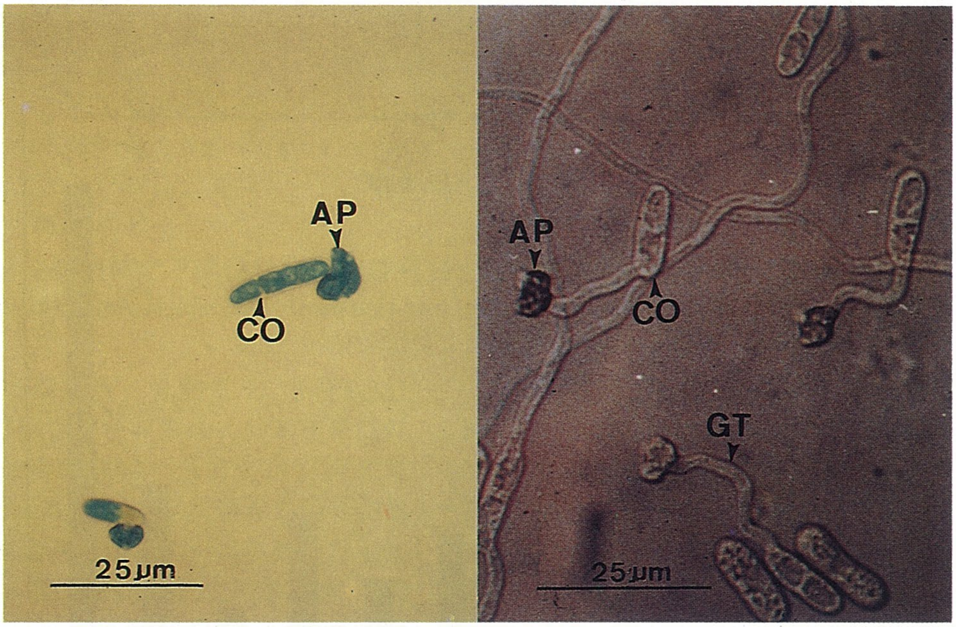
表一、香蕉炭疽病菌在香蕉果皮上之胞子發芽率及附著器形成率

Table 1. Conidial germination and appressorial formation of *Colletotrichum musae* on the banana peel with different treatment

Treatment	Conidial germination(%)	Appressorial formation from germinated conidia(%)
Ripen banana	90.8 a[1)]	92.1 a
Green banana	96.6 a	90.2 a
Green banana with cellophane	62.4 b	24.3 b
Green banana wound inoculation	- [2)]	-
Green banana with cellophane on wounds	100 a	0 c

1) Data are averages of three replicates 48 hrs after inoculation. Means in each column followed by the same letters are not significantly different at p=0.05 according to Duncan's multiple range test.

2) Data are not recorded because it is difficult to calculate the germination of conidia embeded in the wounds.



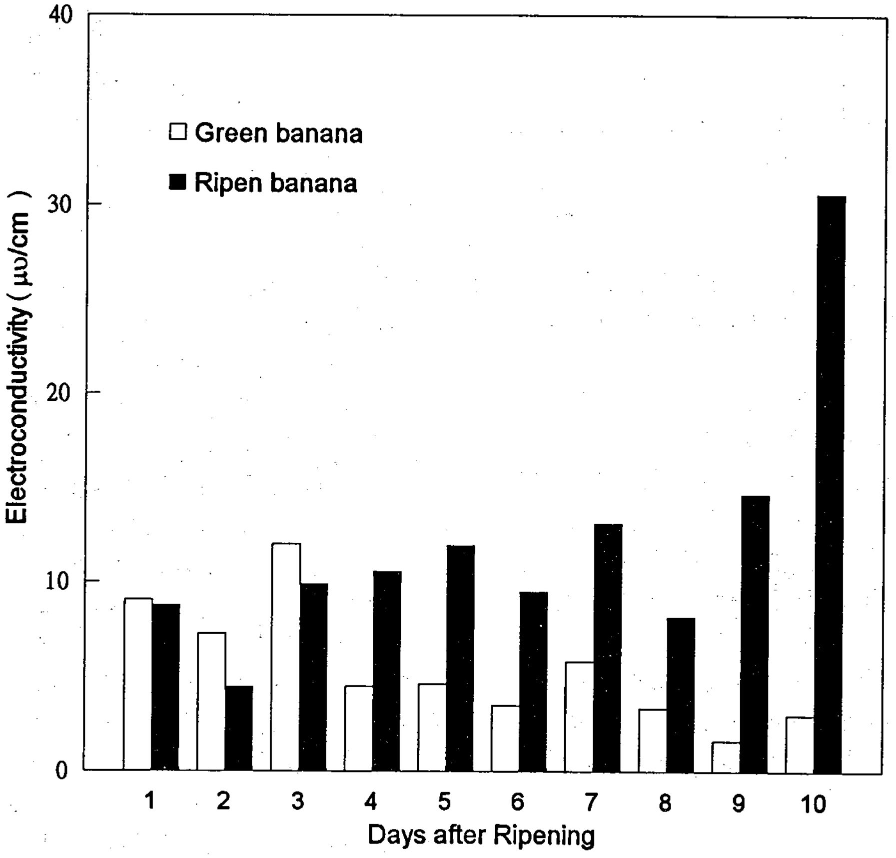
圖一、10,000 ppm單寧對香蕉炭疽病菌分生胞子發芽之影響，左爲在含10,000 ppm單寧的 4 % WA平板12小時後發芽生成無發芽管之附著器，右爲在未含單寧下之正常發芽 情形。(AP：附著器，CO：分生胞子，GT：發芽管)

Fig. 1. The efffect of 10,000 ppm tannin on the conidial germination and appressorial formation of *Colletotrichum musae.* Left: Appressoria are formed from the conidia without germ tubes after 12 hrs on 4 % water agar plates amended with 10,000ppm tannin. Right: Normal conidial germination and appressorial formation on the water agar plate without tannin amended. (AP: appressorium, CO: conidium, GT: germ tube)

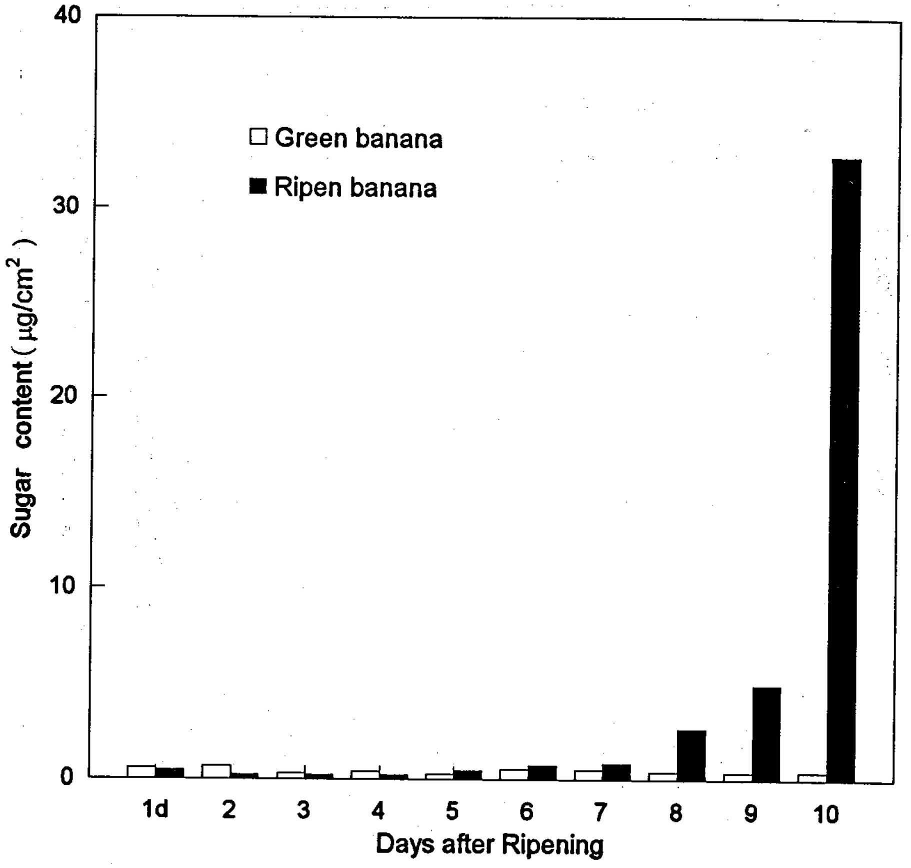
長的發芽管。

催熟後香蕉果皮上分泌物濃度

不同催熟後天數香蕉分泌物之變化，本試驗重複二次，其結果類似，以第一次實驗加以說明。催熟後一天，香蕉外表是全綠，第二天則是綠色帶微黃，第三天爲黃色帶綠色，第四天是全黃，第五天則出現生理小斑點，第六天黑斑約大至2 mm，第七天老斑大至2 mm以上，第八天果蒂易斷、黑斑擴大至3～4 mm，第九天在擦壓傷口部位有炭疽病菌產胞跡象，第十天則一半面積變成黑色。以1,000 ml之萃取液測pH值，無法得到規律的變化，但若測其1000 ml之萃取液的電導度(圖二)，則發現在前八天之電導度，催熟之香蕉與未催熟香蕉差異不大，但是至第九天時分別是14.72及1.63 μv/cm，催熟者爲未催熟者之九倍；而第十天時比值更達10倍以上，分別是30.6及2.98 μv/cm。而由減壓濃縮後，測得之蛋白質及總含醣量，換算得出的單位表面積上分泌含醣量(μg/cm^{2}果皮)(圖三)及蛋白質量(μg/cm^{2}果皮)(圖四)，可看出未催熟之青香蕉分泌出的單位醣量，在測量之十天內，多在0.3～0.6 μg之間，而催熟後的香蕉分泌出的總含醣量在第五天起，隨著時間之增加而快速增加，爲0.47 μg/cm^2，在第八天，催熟者之含醣較未催熟者多了近六倍，分別是2.645及0.394，而第十天時



圖二、香蕉催熟後不同天數分泌物萃取液電導度之變化。
Fig.2.Electroconductivity change of banana leachates in 1l deionized water.

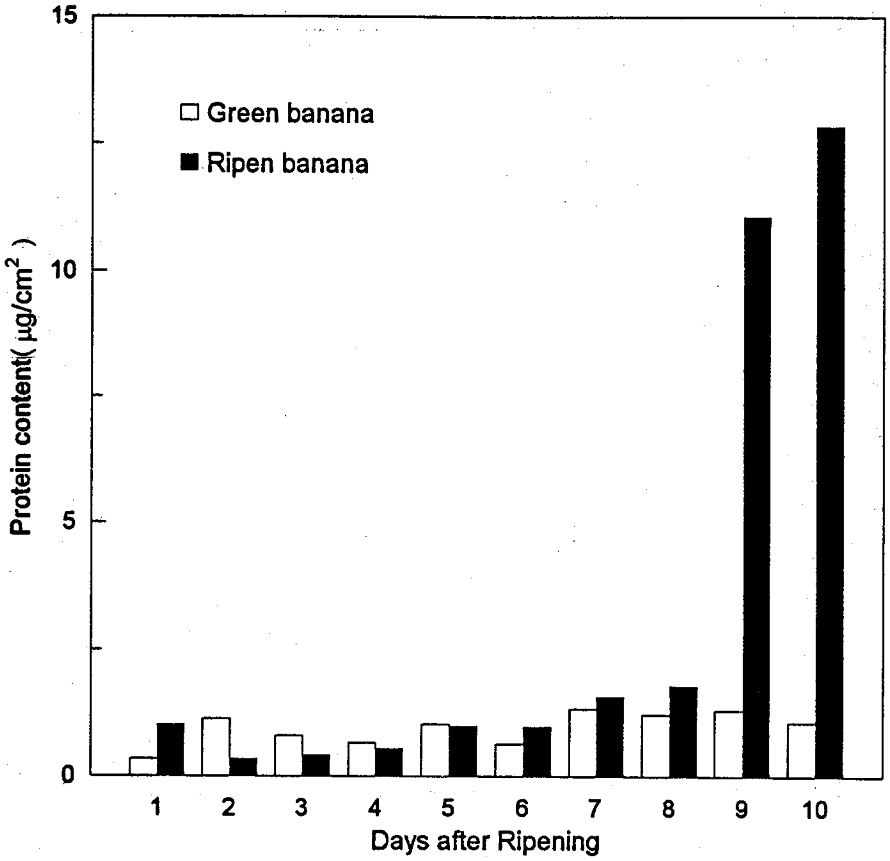


圖三、單位表面積之不同催熟後天數香蕉表皮滲漏出之總醣量比較。
Fig.3. Sugar content in leachates from unit area of banana peels.

則增加85倍之多，分別是32.72及0.381。因此，香蕉在轉色成熟後，分泌在果皮外的醣類會快速增加。至於蛋白質則在第九、第十天時，劇增至八至十二倍。在第八天時青香蕉爲1.225，而熟香蕉爲1.79 $\mu g/cm^2$，但是到了第九天青香蕉只有1.305，而熟香蕉則爲11.08 $\mu g/cm^2$，第十天時則分別爲1.061及12.841。至於dopamine則在二次試驗之濃縮液中皆未測得，顯示在果皮上的dopamine 之量極少。

青香蕉果皮接種部位滴水處理與感染之關係

以蒸餾水沖掉接種部位上香蕉滲漏出的物質，結果使得接種位置的病斑擴展受到限制。傷口接種者在第四天即出現病斑，而且初期病斑之擴展很快，但到了後期有滴水者其病斑擴展速率明顯降低，與同樣傷口接種者比較，顯示沖洗掉滲漏物會降低病斑之擴展(表二)。而無傷口接種並滴水處理者較同樣無傷口接種，但不滴水之處理，延後二天才在接種位置出現病斑，並且擴展速率比未滴水者慢。至於另外二個未人工接種病原之滴水位置，在滴水期中未出現病斑，但滴水十天後予以停止滴水，三天後病斑仍會出現，表示雖未接種病原菌，但在滴水位置上仍有自然



圖四、單位表面積之不同催熟後天數香蕉表皮滲漏出之蛋白質量比較。
Fig.4. Protein content of leachates from unit area of banana peels.

表二、接種部位滴水對香蕉炭疽病感染之影響
Table 2. The effect of dripping on the inoculated position of banana on the infection of *Colletotrichum musae*

Treatment	Lesion size (mm) days after dripping									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
No wound without inoculation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
No wound inoculation with dripping	0	0	0	0	0	0	0	1.7	2.3	3.3
No wound inoculation without dripping	0	0	0	0	0	3.3	9.7	11.0	13.7	17.7
Wound without inoculation with dripping	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Wound inoculation with dripping	0	0	0	4.7	7.7	9.0	9.7	11.7	14.0	-
Wound inoculation without dripping	0	0	0	4.3	8.3	11.7	19.3	22.7	25.0	28.0

感染病原菌存在。

添加養分對胞子發芽及附著器形成之影響

雖然分生胞子事先在過濾膜上清洗三次，其發芽率仍極佳，在不添加dopamine下，不供給養分時，仍有80.2％的發芽率，與添加養分者相差不多(表三)。在添加A、B、C、D營養液之條件下，附著器形成率皆極高，而在E、F二營養液條件下，並不生成附著器，而且菌絲生長極為茂密。顯示養分越好，其形成附著器的比率便會降低，而低養分、高dopamine之下，胞子發芽後較快形成附著器，菌絲生長不佳；但是較低dopamine下，生成附著器比率也較低。

討　　論

以往之研究頗多著重於*C. musae*之分生胞子在青香蕉表面發芽及產生附著器的因素之探討；分析青香蕉與熟香蕉二者生理變化有關的差異成份，並測試分生胞子發芽及附著器形成，以解釋*C. musae*在青香蕉表面生長停滯之現象(10,11,12,16,17,19,23)。但如前述試驗結果，不同成熟度之香蕉表面發芽率及附著器形成並無顯著差異，表示分生胞子是否發芽與潛伏感染無關。我們將分生胞子懸浮液滴在載玻片上，*C. musae*照樣發芽且形成附著器[3]，似乎分生胞子之發芽及形成附著器的原因並無專一性，Lapp等人[17]也曾提出cAMP與附著器形成有關，而我們試驗結果發現附著器也會在加有單寧的培養基中生成，但是不能說單寧乃是形成附著器的唯一原因。從未正式發表之資料也看出水瓊脂(water agar)硬度愈大，單寧含量愈高，其形成附著器之比率也越高[3]。而饑餓缺乏養分也被認為是形成附著器及附著器不發芽的原因之一[14,15]。表一中青香蕉無傷口接種，但覆蓋cellophane者，可能因為cellophane阻擋住香蕉分泌出的物質，以致發芽率下降，並且因硬度較青香蕉表面軟，以致附著器形成率下降，但若是傷口接種時，雖隔著cellophane，其發芽率卻達到100％，且在四十八小時檢查時未見生成附著器。Mercer等人[18]以*C. lindemuthianum*為例，如果供給養分，便會延緩或抑制其生成附著器，並且會在Fresh bean表面形成菌絲網而不會侵入植物體內，因此影響附著器之生成原因可能頗多。Emmett及Parbery[15]即認為附著器形成原

表三、營養添加物與Dopamine對*Colletotrichum musae*胞子發芽率及附著器形成的影響
Table 3. The effect of nutrients[1)] and dopamine on the conidial germination and appressorial formation of *Colletotrichum musae*

Dopamine (ppm)	Conidial germination						Appressorial formation					
	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F
0	80.2	89.3	100	100	100	100	100	100	92.6	78.4	0	0
2000	94.5	87.8	90.5	95.7	99.2	98.5	100	100	94.3	91.6	0	0
10000	81.4	76.5	87.4	83.5	94.3	100	100	100	100	94.5	0	0
20000	83.2	80.5	81.6	89.3	93.3	92.7	100	100	100	100	0	0

1) Added nutrients
A:glucose 0 mg/cm^2+asparagine 0 mg/cm^2, B:glucose 2 mg/cm^2+asparagine 2 mg/cm^2,
C:glucose 5 mg/cm^2+asparagine 10 mg/cm^2, D:glucose 10 mg/cm^2+asparagine 20 mg/cm^2,
E:glucose 40 mg/cm^2+asparagine 30 mg/cm^2, F:glucose 100 mg/cm^2+asparagine 50mg/cm^2.

因可分成三大類，即遺傳因子、化學刺激和物理接觸，而且他們認爲物理趨觸性往往是形成附著器的主要原因，在硬的表面，不論是寄主表面或是無生命的有機物或無機物，都會促成附著器的形成，因此以分生胞子發芽率及附著器的形成來判斷某物質與潛伏感染的關係並非很適合的作法。

1981年Muirhead & Deverall [19] 發現香蕉炭疽病菌在青香蕉上的潛伏構造，並不是前人所認爲的在香蕉表皮上由附著器伸出的subcuticular hyphae[12,20,22,24]，而是在果皮上形成的暗色附著器(dark appressoria)，與前述會伸出菌絲的附著器不同的是，此型暗色附著器壁較厚、形狀不規則、色黑，在香蕉成熟前不生出侵入絲(infection peg)，必須等條件適宜之後，暗色附著器才會發芽伸出侵入絲，建立菌群產生病斑。而在青香蕉表面即伸出subcuticular hyphae的透明附著器(hyaline appressoria)，則是壁薄、色淡較圓形，其伸出的subcuticular hyphae並引起香蕉組織的過敏性反應，待香蕉成熟後，此subcuticular hyphae並不再繼續生長。而Muirhead & Deverall也發現暗色附著器可以抵抗昇汞，但透明附著器則會被昇汞殺死，因此，他們認爲眞正的潛伏構造應是暗色的附著器。

本試驗結果顯示10,000 ppm單寧及乾燥雖能阻擾香蕉炭疽病菌之生長，但經六十天後仍無法殺死其附著器，及我們的試驗，使用1,000 ppm昇汞及TBZ來浸泡青香蕉，雖然可以降低催熟後之病斑數目，但是無法完全殺死所有潛伏的病原菌，等到黃熟後每根果指仍會有1.4到10.5個病斑[3]，可見其潛伏構造抵抗惡劣環境的能力之強。

毒素說是Simmonds解釋香蕉炭疽病菌潛伏原因之一，其中最常被提出的毒素乃是單寧，根據Barnell & Barnell[7]之研究，果皮內可萃取出具活力的單寧量在催熟後會降低爲青香蕉時之十分之一；黃氏[2]亦指出台蕉冬蕉果皮在收穫後第一天之單寧含量可高達24,830 ppm，而果肉爲10,080 ppm，含量會隨催熟後天數之增加而降低，此點似乎頗吻合潛伏感染之過程。而我們將單寧加入培養基之後，在不供給養分的WA上，當濃度達1,000 ppm時仍不會抑制發芽，經24小時後鏡檢，發現發芽正常且菌絲有伸長之能力，而其附著器形成率與dopamine濃度成正比。此與Greene & Morales之研究發現0.6 %之單寧不會抑制胞子發芽及菌絲生長相同。但是我們把單寧濃度提高爲10,000 ppm，即1 %時，發芽雖未受阻，但是發芽管並不再伸長而直接生成附著器，並且即使在供給養分的PDA培養基上，其行爲仍是一樣，因此，前人之研究[12,13]認爲加入更多的養分便會降低單寧之毒性，此說雖在0.6 %單寧濃度下可成立，但當我們把濃度提升到10,000 ppm時，即使給予充足養分，仍不能去除毒性之影響。但是即使10,000 ppm單寧及乾旱之下，附著器仍能繼續存活長達60天，當環境適合時能迅速地重新生長，其生命力之強[21]，更加證明眞正的潛伏構造是附著器。所以我們認爲*C. musae*在香蕉表面生成附著器乃是正常的保護自己的行爲，眞正應注意的是附著器再發芽的問題。在青香蕉傷口接種時之分生胞子發芽生長，且在鏡檢時未發現附著器，顯示似乎傷口提供了*C. musae*某些物質促使其在同樣時間內可以生長而不必生成附著器以存活。

將香蕉表面的物質以水沖掉後，接種點病斑延後出現，表示分泌到果表上的物質可能有助附著器發芽，因爲將之沖掉即延緩病勢而不沖掉時病斑便會擴展，此點亦可由表三中看出，使用熟香蕉在第十天果表上分泌出醣與蛋白質量之替代養分量E與F處理時，炭疽病菌分生胞子發芽並

且不再生成附著器，顯然此時在香蕉果表上的養分已足夠病原之利用，不需再生成附著器以抵抗逆境。而在我們其他的實驗中亦發現，剝除青澀香蕉果皮後，或者將青香蕉浸熱水後，再將炭疽病菌無傷口接種於果肉或果皮上，皆發現病原菌在其上正常增殖完全不受抑制(3)，表示果肉或是果皮內之物質事實上都可爲病原所利用，但是因爲在完整果皮保護之下，能分泌到果皮外被炭疽病菌利用的太少，所以部份附著器無法發芽而在果皮上潛伏。而部份發芽而侵入果皮內之侵入釘卻引起青香蕉之過敏性反應(17)或是因爲青香蕉果內之單寧濃度過高而被殺死。

我們認爲炭疽病菌分生胞子發芽並非潛伏原因，而附著器在青香蕉或熟香蕉表面形成，主要應是硬度造成，當然果表表面之養分太少亦是促使附著器生成的原因，至於前述之單寧雖可影響伸入果肉內之病原菌，但是因其分泌到果皮外的量太少，因此我們認爲其在附著器於果皮生成上可能不扮演重要角色；而後部份侵入絲之死亡則是過敏性反應及單寧過高所致；留在果表上的附著器之再發芽則可能是因爲果表破裂，使果表上分泌物增加，提供了附著器養分所致。

引用文獻

1. 丁一俔、何芳陔、張爲憲　1986　生物化學實驗修訂3版。環球書社　台北。
2. 黃耀正　1986　香蕉在成熟及後熟過程中成分及生理化學變化之研究。中華民國台灣大學農化學所碩士論文。
3. 楊宏仁　1989　香蕉炭疽病菌之變異及其潛伏感染機制之探討。中華民國臺灣大學植物病蟲害學系博士論文。
4. 楊宏仁、莊再揚　1991　香蕉炭疽病菌之變異性。植保會刊　33: 262-274。
5. 謝魁鵬、魏耀揮　1985　最新生物化學實驗。藝軒出版社　台北。
6. Barnell, H. R. 1940. Studies in tropical fruits.8. Carbohydrate metabolism of the banana fruit during development. Ann. Bot. n.s. 4: 39-71.
7. Barnell, H. R. 1941. Studies in tropical fruits. II . Carbohydrate metabolism of the banana fruit during ripening under tropical condition. Ann. Bot. n. s. 5: 217-247.
8. Barnell, H. R. 1941. Studies in tropical fruits. 13. Carbohydrate metabolism of the banana fruit during storage at 53 and 68F. Ann. Bot. n.s. 5: 608-646.
9. Barnell, H. R., and Barnell, E. 1945. Studies in tropical fruits.16. The distribution of tannins within the banana and the changes in their condition and amount during ripening. Ann. Bot. n.s. 9: 77-99.
10. Brown, A. E., and Swinburn, T. R. 1980. The resistance of immature banana fruits to anthracnose *Colletotrichum musae* (Berk.& Curt.) Arx.) Phytopath. Z. 99: 70-80.
11. Brown, A. E., and Swinburne, T. R. 1981. Influence of iron and iron chelators on formation of progressive lessions by *Colletotrichum musae* on banana fruits. Trans. Br. Mycol. Soc. 77: 119-124.
12. Chakravarty,T. 1957. Anthracnose of banana (*Gloeosporium musarum* Che. & Massee) with special reference to latent infection in storage. Trans. Brit. mycol. Soc. 40: 337-345.
13. Cook, A. A. 1975. Diseases of tropical and subtropical fruits and nuts. Hafner Press. New York & London, 305pp.

14.Dunkle, L. D., Wergin, W. P., and Allen, P. J. 1970. Nucleoli in differentiated germ tubes of wheat stem rust uredospores. Can. J. Bot. 48: 1693-1695.

15.Emmett, R. W., and Parbery, D. G. 1975. Appressoria. Annu. Rev. Phytopathol. 13: 147-167.

16.Harper, D. B., and Swinburne, T. R. 1979. 2,3-Dihydroxybenzoic acid and related compounds as stimulants of germination of conidia of *Colletotrichum musae* (Berk.&Curt) Arx. Physiol. Plant Pathol. 14: 363-370.

17.Lapp, M. S., Tewari, J. R., and Skoropad, W. P. 1979. Inhibition of appressorial formation in *Colletotrichum graminicola* by cyclic AMP. Trans. Br. Mycol. Soc. 73: 207-211.

18.Mercer, P., Wood, R. K. S., and Greenwood, A. D. 1970. The effect of orange extract and other additives on anthracnose of French beans caused by *Colletrtrichum lindemuthianum*. Ann. Bot. n.s. 34: 593-604.

19.Muirhead,I. F., and Deverall, B. J. 1981. Role of appressoria in latent infection of banana fruits by *Colletotrichum musae*. Physiol. Plant Pathol. 19: 77-84.

20.Mulvena, D., Webb,E. C., and Zerner, B. 1969. 3,4-dihydroxybenzaldehyde, a fungistatic substance from green Cavendish bananas. Phytochemistry 8: 393-395.

21.Nicholson, R. L., and Moraes, B. C. 1980. Survival of *Colletotrichum graminicola*: Importance of the spore matrix. Phytopathology 70: 255-261.

22.Simmonds, J. H. 1963. Studies in the latent phase of *Colletotrichum* species causing ripe rots of tropical fruits. Queensland J. Agric. Anim. Sci. 20: 373-424.

23.Swinburne, T. R. 1976. Stimulants of germination and appressoria formation by *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt) Arx. in banana leachate. Phytopathol. Z. 87: 74-90.

24.Verhoeff, K. 1974. Latent infection by fungi. Annu. Rev. Phytopathol. 12: 99-110.

ABSTRACT

Yang, H. R., and Chuang, T. Y. 1996. The nutrient effect on the appressoria behavior and latent infection of *Colletotrichum musae*. Plant Prot. Bull. 38: 247-259.

There are no differences between the rates of conidial germination and appressorial formation of *Colletotrichum musae* on the green banana peel and on the ripen banana. Wounding might enhance the conidial germination and the mycelial growth on the banana peel but inhibit the formation of appressoria. Appressoria formed from conidia directly with no germ tube on the PDA amended with 10,000 ppm tannin. Appressoria were capable of with standing high concentration of 10,000 ppm tannin and dryness for more than 60 days. The leachates from banana markedly increased 10 days after ripening, carbohydrates increased 85 times and the proteins increased 12 times. Using the glucose and asparagine to replace carbohydrate and protein, respectively, in the leachate of banana peel, results showed that low concentration of nutrient leachated from the banana peel 9 days after ripening only stimulated conidial germination and appressorial formation but not mycelial growth on the millipore membrane placed on the agarose plate, but high concentration of nutrient leachated from the banana peel 10 days after ripening was capable of enhancing mycelial growth and inhibiting appressorial formation. Dripping to remove leachates from the surface of banana peel might also delay infection.

(Key words: banana anthracnose, *Colletotrichum musae*, appressorium, nutrient)